

EV326984870US

世界知的所有権機関  
国際事務局

PCT

## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類7 C12N 15/38, 5/06, 7/08, C12P 21/08, C12Q 1/68, 1/70, C07K 14/04, 16/08, A61K 39/25	A1	(11) 国際公開番号 <b>WO00/50603</b>
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05476		(43) 国際公開日 2000年8月31日(31.08.00)
(22) 国際出願日 1999年10月5日(05.10.99)		
(30) 優先権データ 特願平11/48964 1999年2月25日(25.02.99)	JP	(74) 代理人 弁理士 西澤利夫(NISHIZAWA, Toshio) 〒150-0042 東京都渋谷区宇田川町37-10 麻仁ビル6階 Tokyo, (JP)
(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 財団法人 阪大微生物病研究会 (THE RESEARCH FOUNDATION FOR MICROBIAL DISEASES OF OSAKA UNIVERSITY)[JP/JP] 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3番1号 大阪大学内 Osaka, (JP)		(81) 指定国 CA, CN, IN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)
(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 五味 康行(GOMI, Yasuyuki)[JP/JP] 今川 忠(IMAGAWA, Tadashi)[JP/JP] 納壽一郎(OSAME, Juichiro)[JP/JP] 〒768-0061 香川県観音寺市八幡町2-9-41 財団法人 阪大微生物病研究会 観音寺研究所内 Kagawa, (JP) 高橋理明(TAKAHASHI, Toshiaki)[JP/JP] 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1 大阪大学内 財団法人 阪大微生物病研究会内 Osaka, (JP)		添付公開書類 国際調査報告書

(54)Title: ATTENUATED CHICKEN-POX VIRUS OKA STRAIN GENE 62 AND METHOD FOR IDENTIFYING VIRUS STRAIN FOR ATTENUATED LIVE CHICKEN-POX VACCINE BY USING THE GENE

(54)発明の名称 弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子62とこの遺伝子62を用いる弱毒生水痘ワクチン用ウイルス株の同定方法

## (57) Abstract

An attenuated chicken-pox virus Oka strain gene 62 having the base sequence represented by SEQ ID NO: 1 with at least the base substitutions (a) to (d) as specified below; (a) substitution of A at the 2110-position to G; (b) substitution of A at the 3100-position to G; (c) substitution of T at the 3818-position to G; and (d) substitution of A at the 4006-position to G; and a method for identifying the attenuated chicken-pox virus Oka strain and an attenuated chicken-pox virus strain acceptable as a virus strain for attenuated live chicken-pox vaccine.

(57)要約

この出願は、配列番号1の塩基配列において、少なくとも以下の(a)～(d)の塩基置換：

- (a) 2110 番塩基 A が G;
- (b) 3100 番塩基 A が G;
- (c) 3818 番塩基 T が C; および
- (d) 4006 番塩基 A が G

を有する弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 と、この遺伝子 62 を用いて弱毒水痘ウイルス岡株および弱毒生水痘ワクチン用ウイルス株として許容し得る弱毒水痘ウイルス株の同定方法を提供する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)。

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AG アンティグア・バーブーダ	DZ アルジェリア	LC セントルシア	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LR リベリア	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LS レソト	SK スロ伐キア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LT リトアニア	SL シエラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BВ バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SZ スウェーデン
BE ベルギー	GE グルジア	MA モロッコ	TD チャード
BF ブルギナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴー
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BR ブラジル	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BY ベラルーシ	GW ギニア・ビサオ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TZ タンザニア
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴー	ID インドネシア	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MZ モザンビーク	VN ベトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーロースラヴィア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュージーランド	
CZ チェコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

## 明細書

### 弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 とこの遺伝子 62 を用いる 弱毒生水痘ワクチン用ウイルス株の同定方法

5

#### 技術分野

この出願は、弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 と、この遺伝子 62 を用いる弱毒生水痘ワクチン用ウイルス株（以下、「弱毒水痘ウイルス株」と記載する）の同定方法に関するものである。さらに詳しくは、この出願は、弱毒水痘生ワクチンの有効成分として使用されている弱毒水痘ウイルス岡株およびその有効成分として許容し得る弱毒水痘ウイルス株を、その野生型水痘ウイルス岡株（以下、「強毒親株」または「親株」と記載する）や他の野生型水痘ウイルス株と区別することのできる遺伝子 62 と、この遺伝子 62 の塩基配列等に基づく弱毒水痘ウイルスの同定方法等に関するものである。

#### 15 背景技術

水痘・帯状疱疹ウイルス (Varicella-Zoster virus: VZV。以下「水痘ウイルス」または「VZV」と記載する) は、ヒト水痘および帯状疱疹の原因ウイルスであり、その弱毒株である「弱毒水痘ウイルス岡株」（特公昭 53-41202 号公報； Lancet 2:1288-1290, 1974）に由来のウイルスを唯一のシードとして生ワクチンが製造され、世界各国で広く使用されている [Requirements for Varicella Vaccine (Live) Adopted 1984: WHO Technical Report Series, No.725, pp.102-124, 1985]。

この弱毒生水痘ワクチンの安全性および有効性は、現在のところ、製造承認された水痘シードウイルスの継代数の制限（シードロットシステム）によって確保されている。すなわち、シードウイルスを連続継代することによって弱毒ウイルスが遺伝的に変化して病原性を回復することの危険性を回避するため、シード承認時の継代数を 0 代とし、そこから総継代数 10 代以内のウイルスをワクチンとして用いることが義務づけられている。換言すれば、弱毒生水痘ワクチンの品質管理および品質保証は、各ワクチン製造者によるシードロットシステムの遵守に依存している。なお、健常児ではこの弱毒生水痘ワクチンの接種によって臨床反応を呈することはないが、被

接種者が免疫機能に障害のある者の場合には、希に水痘や帯状疱疹を発症することがある。しかしながら、そのような臨床反応が、ワクチン接種によるものか、あるいは野生型水痘ウイルスの自然感染によるものかは特定不能であった。従って、弱毒生水痘ワクチンのシードウイルスである弱毒水痘ウイルス岡株と他の野生型 VZV との相違を分析することが疫学的に重要となり、そのための方法が幾つか提案されてきた。すなわち、VZV ゲノム遺伝子の構造が報告 (Journal of General Virology, 67:1759-1816, 1986) されて以来、例えば、VZV 株間の DNA 塩基配列の違い (Journal of Virology, 59:660-668, 1986) 、制限酵素 *Pst* I サイトの有無 (Japanese Journal of Experimental Medicine, 59:233-237, 1989) 、PCR (Polimerase chain reaction) を用いる RFLP (restriction fragment length polymorphism) に基づく判定 (Journal of Virology, 66:1016-1020, 1992) 、上記 *Pst* I サイトの有無と PCR 産物の RFLP との組み合わせ (Journal of Clinical Microbiology, 33:658-660, 1995) 等に基づく方法が報告されてきた。しかしながら、これらの方法はいずれも各々単独では信頼性が低いため、弱毒水痘ウイルス岡株と他の野生株とを正確に区別することは困難であった。

これに対して、この出願の出願人は、弱毒水痘ウイルス岡株と他の水痘ウイルス株（例えば、公知の野生株および自然感染の水痘患者から分離した新鮮野生株等）について広範な遺伝子解析を行い、両者を区別しうる 8 つの要件を特定するとともに、未知の水痘ウイルスがこれら 8 要件の全てを満たす場合にのみ、それが生水痘ワクチン用の弱毒水痘ウイルス岡株として許容しうることを見出し、既に特許出願している (WO97/43420 号公報。以下、先願発明と記載する)。

この出願人らによる先願発明の方法は、弱毒水痘ウイルス岡株と他の水痘ウイルス株とを区別することは可能であるが、弱毒水痘ウイルス岡株とその親株とを区別することは不可能であった。また 8 つの指標について全てを検査しなければならないため、判定までに多くの時間と手間を要するという問題も存在した。

この出願の発明者らは、弱毒水痘ウイルス岡株とその親株とを区別しうる方法について鋭意研究を重ねた結果、水痘ウイルスの遺伝子 62 の変異を検出することによって、弱毒水痘ウイルス岡株と、その親株並びに他の野生型水痘ウイルス株とを簡便かつ確実に区別しうることを見出した。この出願の発明は、このような新規な知見に基づいてなされたものであり、弱毒水痘ウイルス

岡株に特徴的な遺伝子 62 を提供することを課題としている。

またこの発明は、上記遺伝子 62 がコードするタンパク質とそのペプチド、これらを抗原として用いることにより得られる抗体および細胞傷害性 T リンパ球 (CTL : cytotoxic T lymphocyte) 、並びに上記の遺伝子 62 を有する弱毒水痘ウイルス株を提供することを課題としている。

5 さらにこの発明は、遺伝子 62 の変異の有無を指標とする弱毒水痘ウイルス株の同定方法、この方法によって同定された弱毒ウイルス株をシードウイルスとする弱毒生水痘ワクチンを提供することを課題としている。

### 発明の開示

10 この出願は、上記の課題を解決する発明として、以下の各発明を提供する。

(1) 配列番号 1 の塩基配列において、少なくとも以下の(a)～(d)の塩基置換：

- (a) 2110 番塩基 A が G ;
- (b) 3100 番塩基 A が G ;
- (c) 3818 番塩基 T が C ; および
- (d) 4006 番塩基 A が G

15 を有する弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62。

(2) (a)～(d)の塩基置換に加え、以下の(e)～(g)の少なくとも 1 以上の塩基置換：

- (e) 1251 番塩基 A が G ;
- (f) 2226 番塩基 A が G ; および
- (g) 3657 番塩基 A が G

20 を有する前記(1)の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62。

(3) (a)～(d)の塩基置換、および(e)～(g)の少なくとも 1 以上の塩基置換に加え、以下の(h)～(o)の少なくとも 1 以上の塩基置換：

- (h) 162 番塩基 T が C ;
- (i) 225 番塩基 T が C ;
- (j) 523 番塩基 T が C ;
- (k) 1565 番塩基 T が C ;
- (l) 1763 番塩基 T が C ;

- (m) 2652 番塩基 T が C ;
- (n) 4052 番塩基 T が C ; および
- (o) 4193 番塩基 T が C .

を有する前記(2)の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62。

- 5 (4) 前記(1)から(3)のいずれかの遺伝子 62 をコードする DNA の断片であって、塩基置換部分を含む 10 塩基対以上の配列からなる DNA 断片。
- (5) 前記(1)の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 がコードするタンパク質であって、配列番号 1 のアミノ酸配列において、少なくとも以下の(A)～(D)のアミノ酸置換：
  - (A) 628 番アミノ酸残基 Ser が Gly ;
  - (B) 958 番アミノ酸残基 Arg が Gly ;
  - (C) 1197 番アミノ酸残基 Val が Ala ; および
  - (D) 1260 番アミノ酸残基 Ile が Val

10 を有するタンパク質。

- (6) (A)～(D)のアミノ酸置換に加え、以下の(E)～(H)の少なくとも 1 以上のアミノ酸置換：
  - (E) 99 番アミノ酸残基 Met が Thr ;
  - (F) 446 番アミノ酸残基 Leu が Pro ;
  - (G) 512 番アミノ酸残基 Val が Ala ; および
  - (H) 1275 番アミノ酸残基 Leu が Ser

15 を有する前記(5)のタンパク質。

- 20 (7) 前記(5)または(6)のタンパク質の一部であり、そのアミノ酸置換部分を含む 5 アミノ酸残基以上の配列からなるペプチド。
- (8) 前記(5)または(6)のタンパク質、もしくは前記(7)のペプチドを抗原として用いることにより得られた抗体または CTL。
- (9) ウィルスゲノムの遺伝子 62 が前記(1)から(3)のいずれかの遺伝子 62 である弱毒水痘ウイルス株。
- 25 (10) 前記(1)から(3)のいずれかの遺伝子 62 の塩基置換と同一の塩基置換を有する水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。
- (11) 前記(4)の DNA 断片がハイブリダイズするゲノム DNA を保有する水痘ウイルスを選択する

ことを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

(12) 前記(8)の抗体または CTL によって認識される抗原を產生する水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

5 (13) 配列番号 1 の塩基配列における少なくとも 2107 番塩基から 2229 番塩基までの DNA 配列を制限酵素 *Nae* I および *Bss*HII で切断し、この DNA 配列が 2 または 3 断片化される水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

(14) DNA 配列が、配列番号 2 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドと配列番号 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドをそれぞれプライマーとし、水痘ウイルスの遺伝子 62 を鑄型とする PCR 法によって調製された DNA 配列である前記(13)の同定方法。

10 (15) 前記(10)から(14)のいずれかの方法によって同定された弱毒水痘ウイルス株。

(16) 前記(9)または(15)の弱毒水痘ウイルス株をシードウイルスとする弱毒生水痘ワクチン。

#### 図面の簡単な説明

第 1 図の上段は、水痘ウイルス遺伝子 62 の構成を示した模式図であり、下段は弱毒水痘ウイルス岡株遺伝子 62 から得た 9 クローンおよび強毒親株の遺伝子 62 の配列分析の結果の要約である。

第 2 図は、次の各水痘ウイルス株遺伝子 62 P C R 産物に対する R F L P 分析の結果を示すアガロースゲル電気泳動図である。レーン 1 : 弱毒水痘ウイルス岡株、レーン 2 : 強毒親株、レーン 3 : 河口株、レーン 4 - 8 : 野生型水痘ウイルス、レーン 9 - 13 : 野生型帯状疱疹ウイルス。なお、両側のレーンはサイズマーカーである。

20 第 3 図は弱毒水痘ウイルス岡株とその強毒親株のそれぞれの遺伝子 62 産物 (IE62) による VZV 各遺伝子プロモーターの活性化を試験した結果である。A は IE4 をコードする遺伝子 4 のプロモーターのエフェクタープラスミド量依存的な活性を示すグラフである。CV1 細胞は、一定量 (0.25 μg) の pCAT-IE4 および様々な量の pVac-G62 (□) または pPar-G62 (●) をコトランスフェクトされている。以下、B は IE62 をコードする遺伝子 62、C は DNA ポリメラーゼをコードする遺伝子 28、D は主要 DNA 結合タンパク質 (major DNA binding protein : MDBP) をコードする遺伝子 29、E は糖タンパク質 C (glycoprotein C : gC) をコードする遺伝子 14、F は gE をコードする遺伝子 68 のそれぞれのプロモーター活性を示すグラフである。

## 発明を実施するための最良の形態

水痘ウイルスの遺伝子 62 は、トランスクレベーション機能（転写をトランスに活性化する機能）を司る遺伝子であって、水痘ウイルスゲノムの全配列（Journal of General Virology, 67:1759-1816, 1986）中の塩基番号 105142—109242 の領域に存在する遺伝子である。この遺伝子 62 は、

5 図 1 上段に示したように、転写開始部位（transcription start site）から矢印方向に転写が進行するため、ゲノム全配列の塩基番号 109242→105142 が“+”ストランドとなる。従って、配列番号 1 の第 1 番塩基“A”はこの+ストランドの 5' 末端塩基（ゲノム全配列の 109242 番塩基）に対応する。なお、以下の説明においてはゲノム全配列の塩基番号を示す場合があるが、このゲノム全配列に示される遺伝子 62 の配列は“-”ストランドであるため、配列番号 1 に示した塩基とは 10 相補的である。

この発明の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 は、配列番号 1 の塩基配列において、表 1 に示した(a)～(d)の塩基置換を有する遺伝子である。また、この弱毒水痘ウイルス岡株遺伝子 62 は、上記(a)～(d)の塩基置換に加え、表 1 の(e)～(g)の少なくとも 1 以上の塩基置換を有する遺伝子、さらには表 1 の(h)～(o)の少なくとも 1 以上塩基置換を有する遺伝子である。

15 また、この発明の弱毒水痘ウイルスのタンパク質は、上記の遺伝子 62 がコードするタンパク質であって、配列番号 1 のアミノ酸配列において、表 1 に示す(A)～(D)のアミノ酸置換を有するタンパク質である。また、このタンパク質は、上記(A)～(D)のアミノ酸置換に加え、表 1 に示す(E)～(H)の少なくとも 1 以上のアミノ酸置換を有するタンパク質である。

表 1

塩基置換	アミノ酸置換
(a) 2110 番 A→G	(A) 661 番 Ser→Gly
(b) 3100 番 A→G	(B) 958 番 Arg→Gly
(c) 3818 番 T→C	(C) 1197 番 Val→Ala
(d) 4006 番 A→G	(D) 1260 番 Ile→Val
(e) 1251 番 A→G	
(f) 2226 番 A→G	
(g) 3657 番 A→G	
(h) 162 番 T→C	
(i) 225 番 T→C	
(j) 523 番 T→C	(E) 99 番 Met→Thr
(k) 1565 番 T→C	(F) 446 番 Leu→Pro
(l) 1763 番 T→C	(G) 512 番 Val→Ala
(m) 2652 番 T→C	
(n) 4052 番 T→C	(H) 1275 番 Leu→Ser
(o) 4193 番 T→C	

このようなアミノ酸置換をもたらす塩基置換を有する遺伝子 62 を保有する水痘ウイルス岡株は、  
20 トランスアクチベーター機能の欠損あるいは減弱によってウイルス粒子形成に必要なタンパク質の発現が全体として低下する結果、弱毒性となるとも考えられる。

このような弱毒水痘ウイルス岡株遺伝子 62 は、例えば公知の弱毒水痘ウイルス岡株 (BIKEN Lot-65 : (財) 阪大微生物病研究会、または ATCC VR-795) から定法により単離することができる。あるいはまた、後記の方法によって同定された弱毒水痘ウイルス株から単離することもできる。  
25

この発明の DNA 断片は、上記の遺伝子 62 をコードする DNA の断片であって、塩基置換部分を含む 10 塩基対以上の DNA 断片である。この DNA 断片は、弱毒水痘ウイルス岡株またはこの発明の方法によって新たに同定された弱毒水痘ウイルス株のゲノム DNA を適当な制限酵素によつて切断するなどの方法により得ることができる。この DNA 断片は、例えば、弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株を強毒親株や他の野生型水痘ウイルス株と区別するための DNA プローブ等として利用することができる。

また、この発明のタンパク質は、上記の遺伝子 62 を、例えば大腸菌や酵母などの微生物で発現

させることによって得ることができる。すなわち、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、DNA 配列クローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、上記遺伝子 62 のコード領域を含む DNA 断片を挿入結合して発現ベクターを作成し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養すれば、遺伝子 62 がコードしているタンパク質を微生物内で大量生産することができる。あるいは、他のタンパク質との融合蛋白質として発現させることもできる。得られた融合蛋白質を適当なプロテアーゼで切断することによって、目的とするタンパク質部分のみを取得することもできる。

これらのタンパク質は、例えば抗体や CTL 作成のための抗原として用いることができる。

この発明のペプチドは、上記タンパク質のアミノ酸配列において、そのアミノ酸置換部分を含む 5 アミノ酸残基以上の配列である。これらのペプチドもまた抗体や CTL を作製するための抗原等として用いることができる。

この発明の抗体は、上記のタンパク質それ自体、またはその部分ペプチドを抗原として、公知の方法により、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体として得ることができる。また、この発明の CTL も、上記のタンパク質それ自体、またはその部分ペプチドを抗原として公知の方法により得ることができる。これらの抗体および CTL は、新たに分離された弱毒水痘ウイルス株の同定方法に用いることができる。

この発明の弱毒水痘ウイルス株は、その遺伝子 62 が、上記の弱毒水痘ウイルス岡株遺伝子 62 と同様の塩基置換を有する水痘ウイルス株であって、弱毒生水痘ワクチン用ウイルス株として許容しうるウイルス株である。このような新しい弱毒水痘ウイルス株は、上記の塩基置換を有する 20 遺伝子 62 を保有する水痘ウイルスを選択することにより同定することができる。具体的には、例えば上記の DNA 断片または抗体もしくは CTL を用いた方法により、野生型水痘ウイルス株から鑑別することができる。

あるいはまた、この出願によって提供される方法、すなわち、配列番号 1 の塩基配列における少なくとも 2107 番塩基から 2229 番塩基までの DNA 配列を制限酵素 *Nae* I および *Bss*H II で切断し、この DNA 配列が 2 または 3 断片化される水痘ウイルスを選択する方法によって同定することができる。上記のとおり、弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 は、2110 番塩基 A が G に置換されている。また、2226 番塩基 A が G に置換されている場合もある。その結果、2110 番塩基 A → G の置換によって配列番号 1 の 2107-2112 番塩基配列には制限酵素 *Nae* I 認識部位

(GCCGGC) が形成され、2226 番塩基 A—G の置換によって配列番号 1 の 2224—2229 配列に *BssHII* 認識部位 (GCGCGC) が形成される。従って、少なくとも配列番号 1 の 2107—2229 番塩基までの DNA 配列を上記 2 種の制限酵素で切断すれば、その DNA 配列は、弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス由来であれば、2 または 3 に断片化される。一方、野生型水痘ウイ

5 ルスや、弱毒水痘ウイルス岡株の強毒親株に由来する DNA 配列の場合には、上記のような塩基置換がないため、上記 2 種の制限酵素で切断されることではなく 1 断片のままである。なお、制限酵素で切断する DNA 配列は、例えば、配列番号 2 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドと配列番号 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドをそれぞれプライマーとし、同定対象とする水痘ウイルス遺伝子 62 を鋳型とする PCR 法によって調製することができる。

10 この発明の弱毒生水痘ワクチンは、上記の方法によって同定された新しい弱毒水痘ウイルス株をシードウイルスとして用いることにより製造されたワクチンである。このような生ワクチンは、弱毒水痘ウイルス岡株をシードウイルスとして用いる既存の弱毒生水痘ワクチンと同様にして製造することができる。

## 15 実施例

以下、実施例を示してこの発明をさらに詳細かつ具体的に説明するが、この発明は以下の例に限定されるものではない。

### 実施例 1

20 弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 およびその強毒親株の遺伝子 62 の塩基配列を決定した。弱毒水痘ウイルス岡株（生ワクチン株）は、BIKEN Lot-65 [（財）阪大微生物病研究会] を使用した。強毒親株（野生型水痘ウイルス岡株）は、MRC-5 細胞で継代増殖させたものを使用した。

25 具体的には、先願発明 (WO97/43420 号公報) の実施例 1 に記載の方法に従い、弱毒水痘ウイルス岡株および強毒親株から DNA を抽出し、Dumas 株の塩基配列 (J. Gen. Virol., 67:1759-1816, 1986) に基づいてデザインしたプライマーを用いて各遺伝子を PCR 法により増幅した。遺伝子 62 の全長は、3 組のプライマー（表 2 に示したセンスプライマー G62N1、G62N2、G62N3、およびアンチセンスプライマー G62R1、G62R2、G62R3）を用い、それぞれ重複する 3 断片として増幅した。なお、各センスプライマーはその 5' 末端に M13 フォワード (-38) 配列 (G62N1-3

の1-19番塩基)を接続している。またアンチセンスプライマーはその5'末端にM13リバース配列(G62R1-3の1-20番塩基)を接続している。

表 2

	プライマー	配 列	ゲノム位置
5	G62N	5'-CCGAGCTCGAATT/CTAGATTCTAAAAACCGTTCCGC-3' <i>Xba</i> I 切断部位	105103-105139
10	G62N1	5'-TTTCCCAGTCACGACGTTGTTCTAAAAACCGTTCCGC-3'	105121-105139
	G62N2	5'-TTTCCCAGTCACGACGTTGCAGGCACAACCGGGTACTCAG-3'	106455-106475
10	G62N3	5'-TTTCCCAGTCACGACGTTGTTGGTCTTACGAATCCTCGG-3'	107844-107864
	G62R	5'-ACCTGATCAGAATTCTGCA/GAGCGGTCTCTCCTTAAACGC-3' <i>Pst</i> I 切断部位	109381-109362
15	G62R1	5'-GGATAACAATTCACACAGGTTCTGATCATCTACGATCCG-3'	106600-106581
	G62R2	5'-GGATAACAATTCACACAGGCAAATTGGATGATTGGAC-3'	107950-107931
	G62R3	5'-GGATAACAATTCACACAGGAGCGGTCTCTCCTTAAACGC-3'	109381-109362

PCR反応溶液は、各デオキシヌクレオチド三磷酸200mM、各プライマー0.3μM、極微量の  
20 鎏型DNA、2.5UのExTaq(宝酒造社製)を含む50μLのExTaqバッファーを用いた。また、  
配列番号3および8のプライマーを用いる場合には、上記の組成に6%DMSOを加えた。增幅は、  
PCR自動化装置(米国Perkin-Elmer社製)を用いて、変性(94°C:1分間)、アニーリング(55°C:  
1.5分間)、伸長(72°C:2分間)を30サイクル行った。

次いで、PCR精製キット(ドイツQIAGEN GmbH社製)を用いてPCR増幅産物とプライマー  
25 とを分離し、精製PCR産物をシークエンシングキット(英国Amersham社製)を用いて配列決  
定し、DNAシークエンサーModel4000L(米国LI-COR社製)で分析した。なお、配列決定の  
際には、蛍光色素IRO-40で標識したM13フォワードプライマーまたはリバースプライマーを用  
いた。

また、同様の方法により、弱毒水痘ウイルス岡株および強毒親株の遺伝子4、14、61の配列決  
定も行った。

30 その結果、遺伝子4、14および61については、弱毒水痘ウイルス岡株と強毒親株との間で塩  
基配列の違いは認められなかった。一方、表3に示したとおり、遺伝子62については、弱毒水痘

ウイルス岡株は 15 塩基が強毒親株と異なっていた。これらの塩基置換は T → C または A → G であり、8 力所の塩基置換は異なるアミノ酸残基をコードするように 2 種類の塩基が混在していた（表 3 の R）。また、弱毒水痘ウイルス岡株と強毒親株の遺伝子 62 は、Dumas 株の遺伝子 62 とは 9 塩基が異なっていた。

5 以上の結果から、弱毒水痘ウイルス岡株と強毒親株とは、それぞれの遺伝子 62 の配列の相違によって区別しうることが確認された。

表 3

	ゲノム位置	ワクチン株	親 株	Dumas 株
10	105169	R (noncoding)	A (noncoding)	A
	105310	R (Ser/Leu)	A (Leu)	A
	105356	C (Val)	T (Ile)	T
	105451	G	G	A
	105512	C	C	A
15	105544	G (Ala)	A (Ala)	A
	105705	C (Ala)	T (Ala)	T
	106262	C (Gly)	T (Arg)	T
	106710	R (Ala)	A (Ala)	A
	107136	C (Ala)	T (Ala)	T
20	107165	T	T	C
	107252	C (Gly)	T (Ser)	T
	107303	C	C	T
	107599	R (Ala/Val)	A (Val)	A
	107607	A	A	C
25	107715	C	C	T
	107797	R (Pro/Leu)	A (Leu)	A
	108111	C (Pro)	T (Pro)	T
	108747	G	G	A
	108838	R (Thr/Met)	A (Met)	A
30	108951	A	A	G
	109044	G	G	C
	109137	R (silent)	A (silent)	A
	109200	R (silent)	A (silent)	A

### 実施例2

弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 およびその強毒親株の遺伝子 62 のそれぞれ全長配列を PCR 法により増幅し、クローニングした。

プライマーとして表1の G62N および G62R のオリゴヌクレオチドを用い、反応溶液中に 6 %  
5 DMSO を加え、伸長反応を 6 分間とした以外は実施例と同一の方法により遺伝子 62 の全長を PCR 法により増幅した。

プライマーは、それぞれ制限酵素 *Xba* I および *Pst* I 認識部位を有しているため、精製 PCR 産物をこれらの制限酵素で切断した後、同一酵素で予め開列した pUC19 にクローニングした。次いで、これらを *E. coli* JM109 に導入した後、弱毒水痘ウイルス岡株および強毒親株の各々について  
10 9 個のプラスミドを各形質転換体から抽出し、インサートの配列を決定した。

結果は第1図に示したとおりである。この第1図から明らかなように、弱毒水痘ウイルス岡株の 9 クローンは、15箇所の塩基のいずれか複数が強毒親株とは異なっていた。特に、塩基番号 1251、  
2110、2226、3100、3667、3818 および 4006 の 8 塩基は全クローンにおいて異なっていた。一方、強毒親株の 9 クローンでは上記の 15 箇所を含め、全て同一の配列であった。

15

### 実施例3

種々の水痘ウイルス株の遺伝子 62 の部分配列の RFLP 分析を行った。

弱毒水痘ウイルス岡株および強毒親株は実施例1と同様のものを使用した。その他、水痘ウイルス野生株である河口株、ワクチン未接種の水痘患者 5 例および帯状疱疹患者 5 例のそれぞれの  
20 水泡液から分離した新鮮野生型ウイルス株 10 検体を使用した。なお、河口株および患者から分離した野生型水痘ウイルス株はヒト HEL 細胞または MRC-5 細胞で 2-3 代継代の後、使用した。

各水痘ウイルスの遺伝子 62 は、配列番号 2 および 3 のオリゴヌクレオチドをプライマーとする PCR 法により増幅した。配列番号 2 のオリゴヌクレオチドは、水痘ウイルス遺伝子 62 (配列番号 1) の 1846-1863 番塩基に対応するリバースプライマーであり、配列番号 3 のオリゴヌクレオチ  
25 ドは 2609-2620 番塩基に対応するフォワードプライマーである。PCR 条件は、伸長時間を 1 分間とした以外は実施例1と同様とした。得られた各 PCR 産物 3  $\mu$ L を、4 U の *Nae* I (宝酒造社製) を 37°C、1.5 時間反応させて切断し、次いで 4 U の *Bss*H II (宝酒造社製) を 50°C、1.5 時間反応させて切断した。切断した DNA 断片は、4 % アガロースゲル (NuSieve 3:1, FMC BioProducts

社製)で電気泳動し、エチジウムプロマイド染色して分析した。

結果は第2図に示したとおりである。この第2図にから明らかなように、弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子62由来のPCR産物(レーン1)は、NaeIおよびBssHIIによって3つの断片(402bp、264bp、116bp)に切断された。一方、強毒親株および患者から分離した新鮮野生型ウイルス株の5 PCR産物(レーン2-13)はこれら制限酵素では切断されることはなく、1断片のままであった。

以上の結果から、水痘ウイルス遺伝子62の少なくとも2107番塩基から2229番塩基までのDNA配列を、制限酵素NaeIおよびBssHIIによって切断し、このDNA配列が2または3断片化される水痘ウイルスを、弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルスとして許容されるウイルス株10 として同定しうることが確認された。

#### 実施例4

遺伝子62発現産物における8カ所のアミノ酸変異とそのトランスクレッセーション活性の関係を分析するため、VZVの各遺伝子のプロモーター配列とクロラムフェニコールトランスクレラ15 ゼ(CAT)遺伝子とを有するレポータープラスミドと、弱毒水痘ウイルス岡株または強毒親株の遺伝子62を保有するエフェクタープラスミドをコトランスクレッセションした細胞においてCATアッセイを行った。

##### 1. 材料と方法

###### 1. 1 プラスミド

20 遺伝子4、14、28、29、62および68の各プロモーター領域開始コドンの約750塩基上流の配列を含むレポータープラスミドpIE4-CAT、pgC-CAT、pPol-CAT、pMDBP-CAT、pIE62-CATおよびpgE-CATを構築した。各プロモーター領域の配列は、5'端にNheIまたはBglII部位を有するプライマーを用いたPCR法により弱毒岡株ゲノムから増幅した。PCR条件は、伸長時間を1分間とした以外は実施例1と同様とした。増幅産物をNheIおよびBglIIで切断し、pCAT3-Basic25 plasmid(米国Promega社製)のCAT遺伝子の上流に挿入結合した。

エフェクタープラスミドpPar-G62は強毒親株の遺伝子62クローンを用いて構築した。また弱毒岡株の遺伝子62から得た9個のクローンから、第1図のクローン9(13塩基置換と8アミノ酸置換を有するクローン)を選択し、エフェクタープラスミドpVac-G62を構築した。

### 1-2. トランスフェクション

CV1 細胞を、35-mm プラスチック皿に  $10^5$  細胞/dish の割合で培養し、この細胞に SuperFect (QIAGEN GmbH) を用いたリポフェクションにより各プラスミドをトランスフェクトした。トランスクレベーション用の各反応溶液には、 $0.25 \mu\text{g}$  のレポータープラスミドと、様々な量 (0—  
5 1  $\mu\text{g}$ ) のエフェクタープラスミドを含めた。また、各トランスクレベーションにおいては、ベクター pUC19 の添加によって DNA の全量を  $2.5 \mu\text{g}$  に一定するようにした。全ての実験は、各 DNA トランスクレベーションにつき少なくとも 3 回行った。

### 1-3. CAT アッセイ

トランスクレベーションから 44 時間後、細胞の全タンパク質と CAT 量を測定した。細胞をリン  
10 酸緩衝生理食塩水で 3 回洗浄し、溶解バッファー (ドイツ Boehringer Mannheim Corporation 社  
製) で溶解した。各溶出物の CAT 濃度は、CAT ELISA Kit (ドイツ Boehringer Mannheim Corporation  
社製) で決定し、Bio-Rad タンパク質試薬 (米国 Bio-Rad 社製) により決定したタンパク質量に  
対して標準化した。

## 2. 結果

試験した VZV 遺伝子の全てのプロモーターは、ほとんど背景活性を示さなかった。すなわち、  
15 エフェクタープラスミドをトランスフェクトしなかった場合には、CAT の発現はほとんど観察されなかつた。

弱毒岡株由来の遺伝子 4 プロモーターは、強毒親株および弱毒岡株のそれぞれの遺伝子 62 発現  
20 産物 (IE62) によってトランスクレベートされた (第3図 A)。ただし、イフェクタープラスミドが低量の場合には、強毒親株の IE62 が弱毒岡株の IE62 よりも強い転写活性を示した。すなわち、イフェクタープラスミドが最も低量 ( $0.25 \mu\text{g}$ ) の場合には、強毒親株 IE62 の転写活性は弱毒岡株 IE62 の 7.8 倍であり、イフェクタープラスミド量が増加するに従って両者の倍率は小さくなつた。

一方、レポータープラスミド pCAT-IE62 をトランスフェクトした細胞からは、CAT 活性はほとんど検出されなかつた (第3図 B)。

さらに、VZV 遺伝子 28 および 29 のそれぞれのプロモーター領域を有する pCAT-Pol および  
pCAT-MDBP (第3図 C および D)、ならびに遺伝子 68 のプロモーター配列を有する pCAT-gE  
(第3図 E) は、強毒親株および弱毒岡株の IE62 によって活性化された。これらの CAT 活性の

量依存曲線は pCAT-IE4 の場合と類似しており、しかも、弱毒岡株 IE62 に比較して強毒親株 IE62 のほうが強い活性を示した。特にイフェクタープラスミドが最も低量の場合、強毒親株 IE62 の活性は、弱毒岡株 IE62 よりも、各々、7.6 倍、5.6 倍および 1.8 倍であった。しかし、遺伝子 14 のプロモーター領域を有する pCAT-gC をトランスフェクトした細胞では CAT 活性は検出されなか  
5 った（第3図 F）。

以上の結果から、VZV 遺伝子 62 の発現産物（IE62）は、前初期の遺伝子 4（ORF4）、初期の遺伝子 28（DNA ポリメラーゼ：Pol）および遺伝子 29（主要 DNA 結合タンパク質：MDBP）、ならびに後期の遺伝子 68（糖タンパク質 E：gE）のプロモーターを活性化することが確認された。  
10 しかもより重要な点は、弱毒岡株 IE62 の転写活性は常に強毒親株 IE62 よりも低いということである。すなわち、弱毒岡株の遺伝子 62 における変異がウイルス複製に影響し、このことが VZV の弱毒化を生じさせていると考えられる。

#### 産業上の利用の可能性

この出願の発明によって、弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルスとして許容される水痘ウイルス株と、他の野生型水痘ウイルスおよび弱毒水痘ウイルス岡株の強毒親株とを簡便かつ正確に区別することが可能となる。また、この出願の発明によって、生ワクチン用の弱毒水痘ウイルス抗原を大量製造することが可能となる。これらの発明によ  
15 って、ワクチン製造およびワクチン接種の安全性および有効性がより一層確実なものとなる。

## 請求の範囲

1. 配列番号1の塩基配列において、少なくとも以下の(a)～(d)の塩基置換：

- (a) 2110 番塩基AがG；
- 5 (b) 3100 番塩基AがG；
- (c) 3818 番塩基TがC； および
- (d) 4006 番塩基AがG

を有する弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62。

10 2. (a)～(d)の塩基置換に加え、以下の(e)～(g)の少なくとも1以上の塩基置換：

- (e) 1251 番塩基AがG；
- (f) 2226 番塩基AがG； および
- (g) 3657 番塩基AがG

を有する請求項1の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62。

15

3. (a)～(d)の塩基置換、および(e)～(g)の少なくとも1以上の塩基置換に加え、以下の(h)～(o)の少なくとも1以上の塩基置換：

- (h) 162 番塩基TがC；
- (i) 225 番塩基TがC；
- 20 (j) 523 番塩基TがC；
- (k) 1565 番塩基TがC；
- (l) 1763 番塩基TがC；
- (m) 2652 番塩基TがC；
- (n) 4052 番塩基TがC； および
- 25 (o) 4193 番塩基TがC

を有する請求項2の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62。

4. 請求項1から3のいずれかの遺伝子 62 をコードする DNA の断片であって、塩基置換部分

を含む 10 塩基対以上の配列からなる DNA 断片。

5. 請求項 1 の弱毒水痘ウイルス岡株の遺伝子 62 がコードするタンパク質であって、配列番号 1 のアミノ酸配列において、少なくとも以下の(A)～(D)のアミノ酸置換：

- 5 (A) 628 番アミノ酸残基 Ser が Gly；
- (B) 958 番アミノ酸残基 Arg が Gly；
- (C) 1197 番アミノ酸残基 Val が Ala； および
- (D) 1260 番アミノ酸残基 Ile が Val

を有するタンパク質。

10

6. (A)～(D)のアミノ酸置換に加え、以下の(E)～(H)の少なくとも 1 以上のアミノ酸置換：

15 (E) 99 番アミノ酸残基 Met が Thr；

(F) 446 番アミノ酸残基 Leu が Pro；

(G) 512 番アミノ酸残基 Val が Ala； および

(H) 1275 番アミノ酸残基 Leu が Ser

を有する請求項 5 のタンパク質。

7. 請求項 5 または 6 のタンパク質の一部であり、そのアミノ酸置換部分を含む 5 アミノ酸残基以上の配列からなるペプチド。

20

8. 請求項 5 または 6 のタンパク質、もしくは請求項 7 のペプチドを抗原として用いることにより得られた抗体または細胞傷害性 T リンパ球。

25

9. ウィルスゲノムの遺伝子 62 が請求項 1 から 3 のいずれかの遺伝子 62 である弱毒水痘ウイルス株。

10. 請求項 1 から 3 のいずれかの遺伝子 62 の塩基置換と同一の塩基置換を有する水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

11. 請求項 4 の DNA 断片がハイブリダイズするゲノム DNA を保有する水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

5 12. 請求項 8 の抗体または細胞傷害性 T リンパ球によって認識される抗原を產生する水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

13. 配列番号 1 の塩基配列における少なくとも 2107 番塩基から 2229 番塩基までの DNA 配列を制限酵素 *Nae* I および *Bss*HII で切断し、この DNA 配列が 2 または 3 断片化される水痘ウイルスを選択することを特徴とする弱毒水痘ウイルス岡株または弱毒水痘ウイルス株の同定方法。

14. DNA 配列が、配列番号 2 の塩基配列からなるオリゴスクレオチドと配列番号 3 の塩基配列からなるオリゴスクレオチドをそれぞれプライマーとし、水痘ウイルスの遺伝子 62 を鑄型とする PCR 法によって調製された DNA 配列である請求項 1 3 の同定方法。

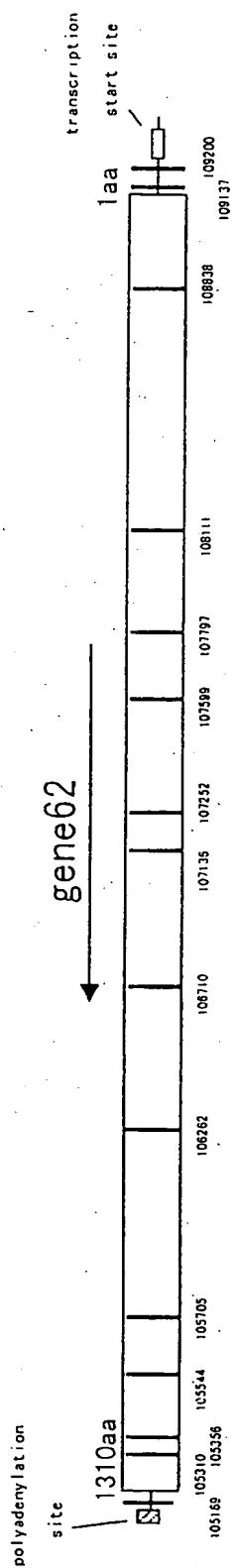
15

15. 請求項 10 から 14 のいずれかの方法によって同定された弱毒水痘ウイルス株。

16. 請求項 9 または 15 の弱毒水痘ウイルス株をシードウイルスとする弱毒生水痘ワクチン。

1/3

## 第1図



Oka parent	position	105169	105310	105356	105544	105544	105705	106262	106710	107135	107232	107398	107797	108111	108938	109137	109200
clone all clones	A	A	T	A	T	T	A	T	A	T	A	G	A	T	A	A	A
clone 1	A	A	C	G	C	C	G	C	C	C	C	G	A	C	A	A	G
clone 2	A	A	C	G	C	C	A	C	C	C	C	G	A	C	A	A	A
clone 3	G	G	C	G	C	C	A	C	C	C	C	A	G	C	A	A	G
clone 4	A	G	C	G	C	C	G	C	C	G	C	G	A	C	A	A	G
clone 5	G	A	C	G	C	C	A	C	C	C	C	G	A	C	A	A	A
clone 6	A	A	C	G	C	C	T	C	C	C	C	A	A	C	A	A	G
clone 7	G	A	C	G	C	C	A	C	C	C	C	G	A	C	A	A	A
clone 8	G	A	C	G	C	C	A	C	C	C	C	G	A	C	G	G	A
clone 9	G	G	C	G	C	C	A	C	C	C	C	G	C	G	G	G	A

\*amino acid

-	Leu	Ile	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Ser	Val	Leu	Pro	Met	-	-	-	-
-	Ser	Val	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Pro	Pro	Thr	-	-	-	-

BEST AVAILABLE COPY

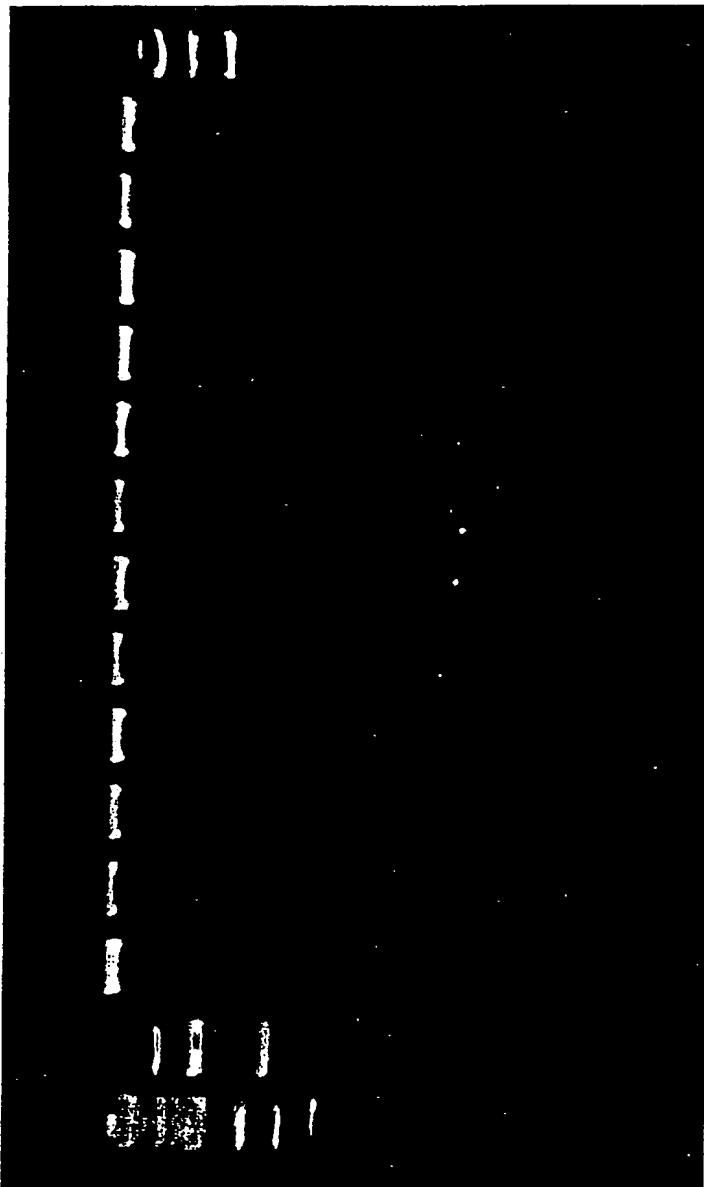
WO 00/50603

PCT/JP99/05476

2/3

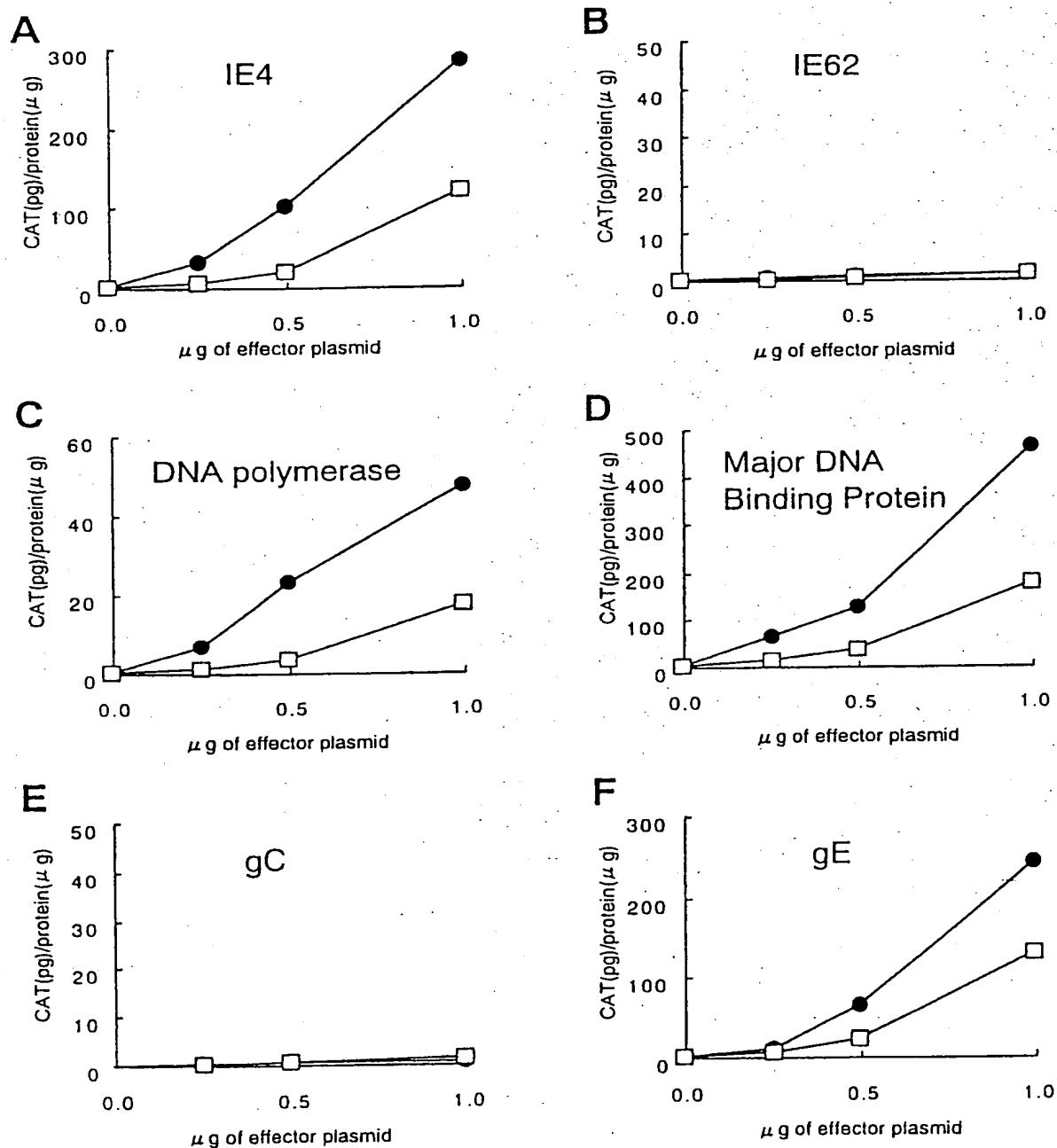
第2図

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



3/3

第3図



## 配列表

<110> 財団法人阪大微生物病研究会

<120> 弱毒水痘ウイルスの遺伝子 62

<150> JP11-48964

5 <151> 25, 02, 1999

<160> 3

<210> 1

<211> 4226

<212> DNA

10 <213> 水痘帯状疱疹ウイルス (Varicella-Zoster virus)

<220>

<221> CDS

<222> 229..4158

<400> 1

15 ATACTATGGT CCATGAAC TT CCCGCCTCGA GTCTCGTCCA ATCACTACAT CGTCTTATCA 60  
 TTAAGAACAT TTACACGGTG ACGACACGGG GAGGAAATAT GCGGTGAGG GGGGGGCACA 120  
 ACACGTTTA AGTACTGTTG GAACTCCCTC ACCAACCGCA ATCGCAATCC TTTGAAGGCT 180  
 GCGAGAGCGT TTGGAAAAT CGGGTACGTC TAAATTCAAC CCAGTGCG ATG GAT 234

Met Asp

20 1  
 ACG CCG CCG ATG CAG CGC TCT ACA CCC CAA CGC GCG GGG TCG CCT GAT 282  
 Thr Pro Pro Met Gln Arg Ser Thr Pro Gln Arg Ala Gly Ser Pro Asp

5

10

15

ACT TTG GAG TTA ATG GAC CTG TTG GAC GCG GCC GCG GCG GCG GAA 330

25 Thr Leu Glu Leu Met Asp Leu Leu Asp Ala Ala Ala Ala Ala Glu

20

25

30

CAC AGG GCC CGG GTG GTC ACC TCG AGT CAG CCT GAC GAT CTA CTA TTT 378

His Arg Ala Arg Val Val Thr Ser Ser Gln Pro Asp Asp Leu Leu Phe

2 / 11

35	40	45	50	
GGA GAG AAC GGG GTC ATG GTG GGA CGG GAA CAT GAG ATC GTT TCA ATT				426
Gly Glu Asn Gly Val Met Val Gly Arg Glu His Glu Ile Val Ser Ile				
55	60	65		
5 CCC TCC GTA TCG GGA CTT CAA CCA GAA CCC AGA ACG GAA GAT GTT GGC				474
Pro Ser Val Ser Gly Leu Gln Pro Glu Pro Arg Thr Glu Asp Val Gly				
70	75	80		
GAA GAG CTA ACA CAA GAC GAC TAC GTA TGC GAG GAC GGT CAG GAT CTA				521
Glu Glu Leu Thr Gln Asp Asp Tyr Val Cys Glu Asp Gly Gln Asp Leu				
10	85	90	95	
10 ATG GGC TCG CCT GTA ATC CCG CTG GCC GAG GTC TTC CAC ACC CGA TTC				570
Met Gly Ser Pro Val Ile Pro Leu Ala Glu Val Phe His Thr Arg Phe				
100	105	110		
100 TCG GAG GCC GGC GCG CGA GAA CCA ACA GGA GCC GAT CGC TCC CTC GAG				618
15 Ser Glu Ala Gly Ala Arg Glu Pro Thr Gly Ala Asp Arg Ser Leu Glu				
115	120	125	130	
115 ACA GTC TCT CTC GGA ACG AAG CTT GCT AGG TCT CCA AAA CCA CCG ATG				666
150 Thr Val Ser Leu Gly Thr Lys Leu Ala Arg Ser Pro Lys Pro Pro Met				
135	140	145		
20 AAC GAT GGG GAA ACG GGC AGA GGT ACG ACC CCT CCG TTC CCG CAG GCC				714
Asn Asp Gly Glu Thr Gly Arg Gly Thr Thr Pro Pro Phe Pro Gln Ala				
150	155	160		
150 TTC TCC CCT GTA TCC CCC GCG TCT CCT GTT GGA GAC GCC GCC GGG AAC				762
175 Phe Ser Pro Val Ser Pro Ala Ser Pro Val Gly Asp Ala Ala Gly Asn				
25	165	170	175	
165 GAT CAA CGG GAA GAC CAG CGG TCT ATA CCC CGA CAA ACG ACG AGA GGA				810
180 Asp Gln Arg Glu Asp Gln Arg Ser Ile Pro Arg Gln Thr Thr Arg Gly				
180	185	190		

AAT TCA CCA GGT TTG CCG TCG GTG GTC CAT CGA GAC AGA CAA ACT CAG			858
Asn Ser Pro Gly Leu Pro Ser Val Val His Arg Asp Arg Gln Thr Gln			
195	200	205	210
TCC ATC TCG GGT AAA AAG CCG GGC GAT GAG CAA GCG GGT CAT GCG CAT			906
5 Ser Ile Ser Gly Lys Lys Pro Gly Asp Glu Gln Ala Gly His Ala His			
215	220	225	
GCA TCG GGG GAC GGA GTA GTT CTC CAG AAA ACT CAA CGG CCC GCT CAG			954
Ala Ser Gly Asp Gly Val Val Leu Gln Lys Thr Gln Arg Pro Ala Gln			
230	235	240	
10 GGA AAG AGC CCG AAG AAA AAG ACT TTG AAG GTT AAG GTC CCA CTC CCG			
Gly Lys Ser Pro Lys Lys Thr Leu Lys Val Lys Val Pro Leu Pro			
245	250	255	
GCG CGG AAA CCC GGT GGA CCT GTA CCC GGC CCG GTT GAG CAA TTG TAC			1050
Ala Arg Lys Pro Gly Gly Pro Val Pro Gly Pro Val Glu Gln Leu Tyr			
15 260	265	270	
CAC GTC CTT TCG GAC AGC GTC CCC GCT AAG GGG GCA AAG GCG GAC CTG			1098
His Val Leu Ser Asp Ser Val Pro Ala Lys Gly Ala Lys Ala Asp Leu			
275	280	285	290
CCG TTT GAG ACC GAT GAT ACC CGC CCA AGG AAA CAT GAT GCC CGG GGT			1146
20 Pro Phe Glu Thr Asp Asp Thr Arg Pro Arg Lys His Asp Ala Arg Gly			
295	300	305	
ATA ACA CCT CGC GTC CCT GGA CGT TCG TCG GGG GGC AAA CCT AGA GCG			1194
Ile Thr Pro Arg Val Pro Gly Arg Ser Ser Gly Gly Lys Pro Arg Ala			
310	315	320	
25 TTT TTG GCC CTG CCG GGA AGA TCC CAC GCA CCA GAC CGG ATT GAG GAT			
Phe Leu Ala Leu Pro Gly Arg Ser His Ala Pro Asp Pro Ile Glu Asp			
325	330	335	
GAC AGC CCA GTG GAG AAA AAG CCA AAG AGT CGT GAG TTT GTT TCG TCT			
			1290

4 / 11

Asp Ser Pro Val Glu Lys Lys Pro Lys Ser Arg Glu Phe Val Ser Ser  
 340 345 350  
 TCA TCC TCT TCC TCG TCG TGG GGA TCG TCA TCG GAG GAT GAA GAC GAT 1338  
 Ser Ser Ser Ser Ser Trp Gly Ser Ser Ser Glu Asp Glu Asp Asp  
 5 355 360 365 370  
 GAA CCC CGG CGC GTT TCG GTG GGA AGT GAA ACT ACA GGC AGC AGG TCC 1386  
 Glu Pro Arg Arg Val Ser Val Gly Ser Glu Thr Thr Gly Ser Arg Ser  
 375 380 385  
 GGA CGC GAA CAC GCC CGT TCC CCG TCA AAT TCG GAT GAT TCG GAC TCA 1434  
 10 Gly Arg Glu His Ala Pro Ser Pro Ser Asn Ser Asp Asp Ser Asp Ser  
 390 395 400  
 AAT GAT GGT GGG TCG ACG AAA CAA AAT ATC CAA CCG GGA TAT CGA TCC 1482  
 Asn Asp Gly Gly Ser Thr Lys Gln Asn Ile Gln Pro Gly Tyr Arg Ser  
 405 410 415  
 15 ATC AGC GGT CCC GAT CCG AGG ATT CGT AAG ACC AAA CGT CTT GCG GGG 1530  
 Ile Ser Gly Pro Asp Pro Arg Ile Arg Lys Thr Lys Arg Leu Ala Gly  
 420 425 430  
 GAA CCG GGG CGC CAG AGA CAG AAA TCA TTT TCC CTG CCG CGA TCC AGA 1578  
 Glu Pro Gly Arg Gln Arg Gln Lys Ser Phe Ser Leu Pro Arg Ser Arg  
 20 435 440 445 450  
 ACC CCG ATA ATT CCC CCG GTG TCG GGG CCG CTC ATG ATG CCC GAC GGA 1626  
 Thr Pro Ile Ile Pro Pro Val Ser Gly Pro Leu Met Met Pro Asp Gly  
 455 460 465  
 AGC CCT TGG CCC GGA TCG GCG CCC CTC CCA TCC AAC AGC GTG CGG TTT 1674  
 25 Ser Pro Trp Pro Gly Ser Ala Pro Leu Pro Ser Asn Arg Val Arg Phe  
 470 475 480  
 GGA CCG TCC GGG GAG ACC AGA GAG GGT CAC TGG GAG GAT GAG GCT GTG 1722  
 Gly Pro Ser Gly Glu Thr Arg Glu Gly His Trp Glu Asp Glu Ala Val

	485	490	495	
	AGA GCG GCG CGG GCT CGT TAC GAG GCC TCA ACT GAA CCC GTG CCG CTT			1770
	Arg Ala Ala Arg Ala Arg Tyr Glu Ala Ser Thr Glu Pro Val Pro Leu			
	500	505	510	
5	TAC GTG CCG GAG TTG GGA GAT CCG GCT AGA CAG TAC CGC GCG CTG ATT			1818
	Tyr Val Pro Glu Leu Gly Asp Pro Ala Arg Gln Tyr Arg Ala Leu Ile			
	515	520	525	530
	AAC CTG ATC TAC TGT CCA GAC AGA GAC CCT ATA GCA TGG CTC CAG AAC			1866
	Asn Leu Ile Tyr Cys Pro Asp Arg Asp Pro Ile Ala Trp Leu Gln Asn			
10	535	540	545	
	CCC AAG CTG ACC GGT GTC AAC TCG GCC CTG AAC CAG TTC TAC CAA AAG			1914
	Pro Lys Leu Thr Gly Val Asn Ser Ala Leu Asn Gln Phe Tyr Gln Lys			
	550	555	560	
	CTG TTG CCA CCG GGA CGG GCG GGT ACC GCC GTT ACG GGG AGC GTA GCG			1962
15	Leu Leu Pro Pro Gly Arg Ala Gly Thr Ala Val Thr Gly Ser Val Ala			
	565	570	575	
	TCT CCC GTT CCG CAT GTA GGC GAA GCC ATG GCC ACG GGG GAG GCC CTC			2010
	Ser Pro Val Pro His Val Gly Glu Ala Met Ala Thr Gly Glu Ala Leu			
	580	585	590	
20	TGG GCT CTC CCC CAC GCG GCC GCG GTG GCT ATG AGC CGT CGG TAC			2058
	Trp Ala Leu Pro His Ala Ala Ala Val Ala Met Ser Arg Arg Tyr			
	595	600	605	610
	GAC CGG GCC CAA AAA CAC TTT ATC CTA CAG AGT CTC CGC AGA GCC TTT			2106
	Asp Arg Ala Gln Lys His Phe Ile Leu Gln Ser Leu Arg Arg Ala Phe			
25	615	620	625	
	GCC AGC ATG GCA TAC CCC GAG GCA ACG GGC TCC AGT CCG GCG GCG CGG			2154
	Ala Ser Met Ala Tyr Pro Glu Ala Thr Gly Ser Ser Pro Ala Ala Arg			
	630	635	640	

	ATC TCC CGC GGT CAC CCT TCT CCA ACA ACC CCG GCC ACA CAG ACT CCC	2202
	Ile Ser Arg Gly His Pro Ser Pro Thr Thr Pro Ala Thr Gln Thr Pro	
	645 650 655	
	GAC CCT CAG CCG TCG GCC GCC GCA CGC TCT CTT TCT GTG TGT CCA CCG	2250
5	Asp Pro Gln Pro Ser Ala Ala Ala Arg Ser Leu Ser Val Cys Pro Pro	
	660 665 670	
	GAT GAT CGT TTA CGA ACT CCG CGC AAG CGC AAG TCC CAG CCA GTC GAG	2298
	Asp Asp Arg Leu Arg Thr Pro Arg Lys Arg Lys Ser Gln Pro Val Glu	
	675 680 685 690	
10	AGC AGA AGC CTC CTC GAC AAG ATT AGG GAG ACA CCC GTC GCG GAC GCC	2346
	Ser Arg Ser Leu Leu Asp Lys Ile Arg Glu Thr Pro Val Ala Asp Ala	
	695 700 705	
	CGG GTT GCA GAC GAT CAT GTG GTT TCC AAG GCC AAG AGG CGG GTA TCC	2394
	Arg Val Ala Asp Asp His Val Val Ser Lys Ala Lys Arg Arg Val Ser	
15	710 715 720	
	GAG CCC GTG ACC ATC ACC TCG GGC CCT GTG GTG GAT CCC CCC GCC GTA	2442
	Glu Pro Val Thr Ile Thr Ser Gly Pro Val Val Asp Pro Pro Ala Val	
	725 730 735	
	ATA ACG ATG CCA CTT GAC GGA CCG GCC CCA AAC GGG GGA TTT CGG CGT	2490
20	Ile Thr Met Pro Leu Asp Gly Pro Ala Pro Asn Gly Gly Phe Arg Arg	
	740 745 750	
	ATT CCC CGG GGG GCC CTG CAT ACC CCG GTC CCG TCG GAC CAG GCT CGC	2538
	Ile Pro Arg Gly Ala Leu His Thr Pro Val Pro Ser Asp Gln Ala Arg	
	755 760 765 770	
25	AAG GCG TAC TGT ACC CCC GAA ACC ATC GCC CGT CTG GTC GAC GAC CCA	2586
	Lys Ala Tyr Cys Thr Pro Glu Thr Ile Ala Arg Leu Val Asp Asp Pro	
	775 780 785	
	TTG TTT CCC ACG GCC TGG CGC CCT GCG CTA AGC TTT GAT CCC GGC GCC	2634

7 / 11

Leu Phe Pro Thr Ala Trp Arg Pro Ala Leu Ser Phe Asp Pro Gly Ala  
 790 795 800  
 TTG GCG GAA ATC GCC GCT CGG CGT CCG GGC GGA GGA GAC CGA CGG TTT 2682  
 Leu Ala Glu Ile Ala Ala Arg Arg Pro Gly Gly Asp Arg Arg Phe  
 5 805 810 815  
 GGT CCA CCC AGC GGA GTG GAG GCG CTG CGA CGG AGG TGC GCC TGG ATG 2730  
 Gly Pro Pro Ser Gly Val Glu Ala Leu Arg Arg Arg Cys Ala Trp Met  
 820 825 830  
 CGG CAG ATC CCA GAC CCG GAG GAT GTG AGG CTT CTG ATC ATC TAC GAT 2778  
 10 Arg Gln Ile Pro Asp Pro Glu Asp Val Arg Leu Leu Ile Ile Tyr Asp  
 835 840 845 850  
 CCG TTG CCC GGA GAG GAC ATC AAC GGC CCC CTC GAG AGC ACC CTC GCG 2826  
 Pro Leu Pro Gly Glu Asp Ile Asn Gly Pro Leu Glu Ser Thr Leu Ala  
 855 860 865  
 15 ACA GAT CCG GGA CCG TCA TGG AGT CCA TCC CGA GGG GGA CTG TCT GTG 2874  
 Thr Asp Pro Gly Pro Ser Trp Ser Pro Ser Arg Gly Gly Leu Ser Val  
 870 875 880  
 GTC CTG GCA GCC CTG AGT AAC CGG TTG TGC CTG CCG AGC ACT CAT GCC 2922  
 Val Leu Ala Ala Leu Ser Asn Arg Leu Cys Leu Pro Ser Thr His Ala  
 20 885 890 895  
 TGG GCC GGG AAC TGG ACC GGC CCG CCG GAC GTG TCC GCT TTG AAC GCC 2970  
 Trp Ala Gly Asn Trp Thr Gly Pro Pro Asp Val Ser Ala Leu Asn Ala  
 900 905 910  
 CGG GGC GTT TTA TTA CTG TCG ACC CGA GAC CTG GCC TTT GCC GGG GCC 3018  
 25 Arg Gly Val Leu Leu Leu Ser Thr Arg Asp Leu Ala Phe Ala Gly Ala  
 915 920 925 930  
 GTC GAG TAT CTA GGC TCG CGG TTG GCC TCT GCC CGG CGC CGG TTG CTG 3066  
 Val Glu Tyr Leu Gly Ser Arg Leu Ala Ser Ala Arg Arg Arg Leu Leu

	925	940	945	
	GTG TTG GAC GCG GTG GCC CTC GAG AGG TGG CCC AGG GAT GGA CCC GCT			3114
	Val Leu Asp Ala Val Ala Leu Glu Arg Trp Pro Arg Asp Gly Pro Ala			
	950	955	960	
5	TTG TCT CAG TAT CAC GTG TAC GTC CGG GCC CCG GCG CGA CCG GAC GCC			3162
	Leu Ser Gln Tyr His Val Tyr Val Arg Ala Pro Ala Arg Pro Asp Ala			
	965	970	975	
	CAG GCC GTC GTC CGA TGG CCA GAC TCG GCG GTC ACA GAA GGA CTC GCC			3210
	Gln Ala Val Val Arg Trp Pro Asp Ser Ala Val Thr Glu Gly Leu Ala			
10	980	985	990	
	CGG GCC GTG TTT GCA TCG TCG CGC ACC TTT GGG CCA GCG AGT TTT GCT			3258
	Arg Ala Val Phe Ala Ser Ser Arg Thr Phe Gly Pro Ala Ser Phe Ala			
	995	1000	1005	1010
	CGT ATC GAG ACT GCG TTT GCC AAC CTG TAC CCG GGC GAA CAA CCC CTG			3306
15	Arg Ile Glu Thr Ala Phe Ala Asn Leu Tyr Pro Gly Glu Gln Pro Leu			
	1015	1020	1025	
	TGT TTG TGC CGC GGT GGG AAC GTC GCA TAC ACC GTG TGT ACC CGC GCG			3354
	Cys Leu Cys Arg Gly Gly Asn Val Ala Tyr Thr Val Cys Thr Arg Ala			
	1030	1035	1040	
20	GGC CCC AAG ACC CGC GTC CCC CTG TCG CCC CGT GAA TAC CGG CAG TAC			3402
	Gly Pro Lys Thr Arg Val Pro Leu Ser Pro Arg Glu Tyr Arg Gln Tyr.			
	1045	1050	1055	
	GTG CTG CCG GGT TTT GAC GGT TGC AAG GAC CTC GCG CGA CAG TCT CGG			3450
	Val Leu Pro Gly Phe Asp Gly Cys Lys Asp Leu Ala Arg Gln Ser Arg			
25	1060	1065	1070	
	GGT CTG GGG CTC GGG GCA GCC GAC TTT GTG GAC GAG GCG GCA CAT AGC			3498
	Gly Leu Gly Leu Gly Ala Ala Asp Phe Val Asp Glu Ala Ala His Ser			
	1075	1080	1085	1090

9 / 11

CAC CGC GCA GCA AAC CGA TGG GGC CTG GGT GCC GCG CTT CGA CCC GTC 3546  
 His Arg Ala Ala Asn Arg Trp Gly Leu Gly Ala Ala Leu Arg Pro Val  
 1095 1100 1105

TTC CTT CCC GAG GGA CGG AGA CCG GGG GCC GCC GGG CCG GAG GCC GGC 3594  
 5 Phe Leu Pro Glu Gly Arg Arg Pro Gly Ala Ala Gly Pro Glu Ala Gly  
 1110 1115 1120

GAC GTA CCC ACC TGG GCG AGG GTG TTT TGC CGC CAC GCC CTG CTG GAA 3642  
 Asp Val Pro Thr Trp Ala Arg Val Phe Cys Arg His Ala Leu Leu Glu  
 1125 1130 1135

CCC GAC CCT GCC GCA GAA CCA CTC GTG CTT CCA CCC GTG GCC GGT CGG 3690  
 10 Pro Asp Pro Ala Ala Glu Pro Leu Val Leu Pro Pro Val Ala Gly Arg  
 1140 1145 1150

TCG GTG GCG CTG TAT GCG TCG GCG GAC GAG GCT CGG AAT GCC CTC CCC 3738  
 Ser Val Ala Leu Tyr Ala Ser Ala Asp Glu Ala Arg Asn Ala Leu Pro  
 15 1155 1160 1165 1170

CCG ATT CCC AGA GTA ATG TGG CCG CCC GGT TTT GGG GCC GCG GAG ACG 3786  
 Pro Ile Pro Arg Val Met Trp Pro Pro Gly Phe Gly Ala Ala Glu Thr  
 1175 1180 1185

G TG TTG GAG GGG AGC GAC GGA ACA CGG TTC GTG TTC GGA CAC CAC GGG 3834  
 20 Val Leu Glu Gly Ser Asp Gly Thr Arg Phe Val Phe Gly His His Gly  
 1190 1195 1200

GGC TCG GAA CGG CCG GCA GAA ACC CAG GCG GGG CGA CAG CGG CGC ACC 3882  
 Gly Ser Glu Arg Pro Ala Glu Thr Gln Ala Gly Arg Gln Arg Arg Thr  
 1205 1210 1215

GCA GAC GAC AGA GAA CAC GCT TTG GAG CCG GAC GAT TGG GAG GTG GGG 3930  
 25 Ala Asp Asp Arg Glu His Ala Leu Glu Pro Asp Asp Trp Glu Val Gly  
 1220 1225 1230

TGT GAA GAC GCG TGG GAC AGC GAG GAG GGG GGC GGG GAC GAC GGG GAC 3978

Cys Glu Asp Ala Trp Asp Ser Glu Glu Gly Gly Gly Asp Asp Gly Asp  
1235 1240 1245 1250  
GCA CCG GGG TCA TCC TTT GGG GTG AGC ATC GTG TCG GTG GCC CCG GGT 4026  
Ala Pro Gly Ser Ser Phe Gly Val Ser Ile Val Ser Val Ala Pro Gly  
5 1255 1260 1265  
GTG CTG CGA GAC CGC CGG GTG GGC TTG CGC CCG GCG GTC AAG GTG GAG 4074  
Val Leu Arg Asp Arg Arg Val Gly Leu Arg Pro Ala Val Lys Val Glu  
1270 1275 1280  
CTG TTG TCC TCG TCC TCG TCC GAG GAC GAG GAC GAT GTG TGG GGA 4122  
10 Leu Leu Ser Ser Ser Ser Ser Glu Asp Glu Asp Asp Val Trp Gly  
1285 1290 1295  
GGG CGC GGG GGG AGG AGC CCC CCG CAG AGT CGG GGG TGACGGAGTC 4168  
Gly Arg Gly Arg Ser Pro Pro Gln Ser Arg Gly  
1300 1305 1310  
15 CCCTCCTTT CTCGTGAGCG CCACTGGCGC GCGGACTGTT TGGTGTGTTGT TAATAAAA 4226

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

20 &lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;400&gt; 2

GATCAAAGCT TAGCGCAG 18

&lt;210&gt; 3

25 &lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;400&gt; 3

WO 00/50603

PCT/JP99/05476

11 / 11

CCTATAGCAT GGCTCCAG

18

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP99/05476

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

Int.Cl' C12N15/38, C12N5/06, C12N7/08, C12P21/08, C12Q1/68, C12Q1/70, C07K14/04, C07K16/08, A61K39/25

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl' C12N15/38, C12N5/06, C12N7/08, C12P21/08, C12Q1/68, C12Q1/70, C07K14/04, C07K16/08, A61K39/25

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP, 510996, A1 (RES FOUND MICROBIAL DIS UNIV OSAKA), 28 October, 1992 (28.10.92) & JP, 06-189752, A & AU, 659449, B & US, 5849476, A & CA, 2066998, A & TW, 210354, A	1-4, 9, 15, 16
Y	US, 3985615, A (RES FOUND MICROBIAL DIS UNIV OSAKA), 12 October, 1976 (12.10.76) & JP, 53-041202, B & BE, 826568, A & FR, 2263786, A & GB, 1457382, A	5-8
Y	FORGHANI, B. et al. "Monoclonal antibody to immediate early protein encoded by varicella-zoster virus gene 62", Virus Res. (1990), vol.16, No.2, p195-210	5-8
A	WO, 97/43420, A1 (RES FOUND MICROBIAL DIS UNIV OSAKA), 20 November, 1997 (20.11.97) & EP, 839911, A1 & CN, 1193351, A	10-14
A	DAVISON, A.J. et al. "The complete DNA sequence of varicella-zoster virus", J.gen.Viro. (1986), vol.67, No.9, p1759-1816	10-14

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

"A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search 24 January, 2000 (24.01.00)	Date of mailing of the international search report 01. 02.00
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/05476

## A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int.Cl' C12N15/38, C12N5/06, C12N7/08, C12P21/08, C12Q1/68,  
C12Q1/70, C07K14/04, C07K16/08, A61K39/25

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int.Cl' C12N15/38, C12N5/06, C12N7/08, C12P21/08, C12Q1/68,  
C12Q1/70, C07K14/04, C07K16/08, A61K39/25

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 510996, A1 (RES FOUND MICROBIAL DIS UNIV OSAKA) 28.10月.1992 (28.10.92) &JP, 06-189752, A &AU, 659449, B &US, 5849476, A &CA, 2066998, A &TW, 210354, A	1-4, 9, 15, 16
Y		5-8
X	US, 3985615, A (RES FOUND MICROBIAL DIS UNIV OSAKA) 12.10月.1976 (12.10.76) &JP, 53-041202, B &BE, 826568, A &FR, 2263786, A &GB, 1457382, A	1-4, 9, 15, 16
Y		5-8

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 24.01.00	国際調査報告の発送日 01.02.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 六笠 紀子 印 4B 9735

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C(続き) .	関連すると認められる文献	
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	FORGHANI, B. et al. "Monoclonal antibody to immediate early protein encoded by varicella-zoster virus gene 62", Virus Res. (1990) 第16巻, 第2号 p195-210	5-8
A	WO, 97/43420, A1 (RES FOUND MICROBIAL DIS UNIV OSAKA) 20.11月.1997 (20.11.97) & EP, 839911, A1 & CN, 1193351, A	10-14
A	DAVISON, A. J. et al. "The complete DNA sequence of varicella-zoster virus", J. gen. Virol. (1986) 第67巻, 第9号 p1759-1816	10-14